

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE  
Bureau international

D1

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : <b>A61K 35/78</b>	<b>A1</b>	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 98/39018</b> (43) Date de publication internationale: 11 septembre 1998 (11.09.98)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR97/00370 (22) Date de dépôt international: 3 mars 1997 (03.03.97) (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LABO- RATOIRES REMILEA [FR/FR]; 7, route de Parentignat, F-63503 Issoire (FR). (71)(72) Déposant et inventeur: SHRIVASTAVA, Ravi [FR/FR]; 43 bis, route de Châteaugay, F-63118 Cébazat (FR). (74) Mandataire: RINUUY, Santarelli; 14, avenue de la Grande Armée, Boîte postale 237, F-75822 Paris Cedex 17 (FR).	(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, brevet ARIPO (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>	
(54) Title: PLANT EXTRACT COMPOSITIONS, METHOD OF PREPARATION, AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING THEM (54) Titre: COMPOSITIONS D'EXTRAITS DE PLANTES, LEUR PROCÉDE DE PREPARATION, ET COMPOSITIONS PHARMA- CEUTIQUES LES RENFERMANT (57) Abstract <p>The invention concerns a composition of salicoid (Salix alba extract) and parthenoid (Tanacetum parthenium extract), or of plants or plant extracts containing these two active principles, its use in a method for treatment of the human or animal body by therapy or for the preparation of a medicine in particular for treating migraine, and compositions particularly pharmaceutical containing them.</p> <p>(57) Abrégé <p>Une composition d'un salicoïde et d'un parthénoïde, ou de plantes ou d'extraits de plantes contenant ces deux principes actifs, son utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal ou pour la préparation d'un médicament notamment destiné au traitement de la migraine, et compositions en particulier pharmaceutiques les renfermant.</p><p><i>Tanacetum parthenium, Valeriana, Salicoid Salix alba</i> <i>Migraine - parthénoïde</i></p></p>		

# UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovenie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	Republique de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Biélorus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

COMPOSITIONS D'EXTRAITS DE PLANTES, LEUR PROCEDE DE PREPARATION, ET  
COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES LES RENFERMANT

La présente invention concerne de nouvelles compositions d'extraits  
5 de plantes, leur procédé de préparation, leur application à titre de médicaments  
et les compositions pharmaceutiques les renfermant.

La migraine touche environ 10% de la population française de  
manière régulière. Cette maladie est à prédominance féminine (deux femmes  
pour un homme).

10 Les traitements de la migraine sont essentiellement  
symptomatiques; aucun n'est réellement curatif. Plusieurs raisons expliquent  
l'absence de découverte d'un médicament anti-migraineux efficace. La difficulté  
majeure est de ne pas connaître parfaitement les facteurs intimes déclenchant  
les accès migraineux. En revanche des hypothèses ont été émises concernant  
15 le rôle :

- des récepteurs neuronaux (sérotonine, dopamine, histamine)
- des prostaglandines,
- des récepteurs nor-adrénergiques (centraux et périphériques),
- le stress, l'alimentation, les effets de la pollution.

20 Tous ces éléments participent probablement au déclenchement de la  
crise migraineuse mais n'expliquent pas à eux seuls le phénomène. En  
l'absence de données scientifiques sur le mécanisme de la migraine, le  
traitement ne peut être, pour le moment, que symptomatique.

La dihydro-ergotamine, les inhibiteurs de prostaglandines (aspirine),  
25 les antalgiques (paracétamol), les inhibiteurs calciques, les  $\beta$  bloquants et les  
autres molécules inhibitrices du récepteur 5HT telles que le sumatriptan  
constituent les traitements symptomatiques de cette maladie.

Ces médicaments, d'origine chimique, sont connus pour avoir des  
effets indésirables voire toxiques (par exemple effet hépatotoxique du

paracétamol et de l'aspirine), en particulier en cas d'utilisation chronique. En outre, à cause de leur efficacité et de leur faible toxicité, ces nouveaux produits sont généralement d'un coût élevé.

On recherche toujours des composés actifs pour lutter contre la  
5 migraine. En outre, les produits d'origine naturelle ont de plus en plus la faveur des malades.

Les écorces de saule blanc (*Salix alba*) sont utilisées, notamment en France, pour le traitement par voie orale de fièvres légères et de gripes, en cas de douleurs, et par voie orale et locale dans les manifestations articulaires  
10 douloureuses, les tendinites et les foulures. Les principes actifs en cause seraient des salicoïdes.

La partie aérienne de la Grande Camomille (*Tanacetum parthenium*) est pour sa part utilisée pour le traitement par voie orale des règles douloureuses et dans la prévention des crises migraineuses. Les principes  
15 actifs en cause seraient des parthénoïdes.

Or la demanderesse a découvert avec étonnement que des compositions de salicoïdes et de parthénoïdes, ou de plantes ou d'extraits de plantes contenant ces deux principes actifs, en particulier associés à un métal choisi de préférence parmi le cuivre, le zinc ou le magnésium à l'état d'oligo-  
20 élément, ou à la riboflavine, étaient douées de remarquables propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et anti-migraineuses.

C'est pourquoi la présente invention a pour objet une nouvelle composition d'un salicoïde et d'un parthénoïde, ou de plantes ou d'extraits de plantes contenant ces deux principes actifs. Une composition préférée  
25 comprend un extrait de plantes du genre *Tanacetum* et un extrait de plante du genre *Salix*.

Par « extrait de plantes » l'on entend au sens large tant des plantes que des parties de plantes, par exemple et de préférence séchées ou déshydratées, et broyées, ou encore des extraits de telles plantes ou parties de

plantes obtenus à l'aide d'au moins un solvant aqueux et/ou organique et se présentant sous une forme classiquement employée en pharmacie ou diététique, liquide ou notamment solide.

La plante du genre Tanacetum peut être par exemple Matricaria-  
5 pyrethrum, Leucanthemum parthenium et de préférence Tanacetum parthenium encore appelée Matricaria chamomilla. On utilise de préférence les parties aériennes de cette plante, séchées et broyées; de tels extraits sont par exemple ceux commercialisés par la société BIOSPHERE 99 (Vic le Comte - FRANCE) sous la référence BIO 3010.

10 La plante du genre Salix, peut être par exemple Salix cinerea, et de préférence Salix alba. On utilise de préférence l'écorce de cette plante, séchée et broyée; de tels extraits sont par exemple ceux commercialisés par la société BIOSPHERE 99 sous la référence BIO 3021.

Une composition préférée ci-dessus est caractérisée en ce qu'elle  
15 renferme en outre de la riboflavine, du zinc, du magnésium ou de préférence du cuivre à l'état d'oligo-élément, c'est-à-dire que le métal est utilisé en proportions faibles ou très faibles, par exemple moins de 1 partie pour 100, de préférence moins de 1 partie pour 300, particulièrement moins de 1 partie pour 1000 par rapport au poids des autres composants.

20 Le cuivre utilisé peut se présenter notamment sous forme de sels de cuivre, particulièrement de sels cuivriques ( $\text{Cu}^{++}$ ), par exemple sous forme de sels minéraux comme le sulfate de cuivre, et tout particulièrement salifiés sous forme de sels organiques, de préférence sous forme de gluconates. Il en est de même pour le zinc ou le magnésium.

25 On retient plus particulièrement des compositions ci-dessus dans lesquelles la plante du genre Tanacetum est Tanacetum parthenium et la plante du genre Salix est Salix alba.

Parmi les compositions de l'invention, on peut citer de plus celles dans lesquelles les extraits utilisés sont des extraits secs de parties de plantes,

séchées et broyées, notamment celles dans lesquelles les extraits utilisés sont les parties aériennes de *Tanacetum parthenium*, séchées et broyées et celles dans lesquelles les extraits utilisés sont l'écorce de *Salix alba*, séchée et broyée.

- 5            Une composition préférée ci-dessus est caractérisée en ce qu'elle renferme, si l'on se réfère à des extraits du type ci-dessus et en ne prenant en considération que lesdits extraits, de 10 à 90% en poids d'extrait de *Tanacetum parthenium* et de 10 à 90% en poids d'extrait de *Salix alba*.

Les compositions objet de la présente invention possèdent de très  
10 intéressantes propriétés pharmacologiques. Elles sont douées notamment de remarquables propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et anti-migraineuses.

Ces propriétés sont illustrées ci-après dans la partie expérimentale. Elles justifient l'utilisation des compositions ci-dessus décrites, à titre de  
15 médicament.

C'est pourquoi l'invention a aussi pour objet les compositions d'un extrait de plantes du genre *Tanacetum* et d'un extrait de plante du genre *Salix*, pour leur utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal, c'est-à-dire à titre de médicament.

- 20            Les médicaments selon la présente invention trouvent leur emploi par exemple dans le traitement tant curatif que préventif des rhumatismes, des pathologies anti-inflammatoires, des pathologies vasculaires notamment de l'hypertension artérielle ou des spasmes vasculaires et des pathologies cardiaques, notamment des tachycardies.

- 25            Ils trouvent aussi leur emploi dans le traitement tant curatif que préventif des migraines.

La dose usuelle, variable selon le sujet traité et l'affection en cause, peut être, par exemple, de 100 mg à 1000 mg par jour par voie orale chez l'homme de parties aériennes, séchées et broyées, de *Tanacetum parthenium*

avec de 300 mg à 1000 mg d'écorce, séchée et broyée, de *Salix alba* et avec 0,05 mg à 2,50 mg de cuivre à l'état d'ions cuivriques, pendant 7 à 30 jours pour le traitement curatif ou préventif des migraines.

L'invention a aussi pour objet les compositions pharmaceutiques qui renferment au moins une composition précitée, à titre de principe actif.

Dans ces compositions, le principe actif est avantageusement présent à des doses physiologiquement efficaces ; les compositions précitées renferment notamment une dose anti-migraineuse efficace d'au moins un principe actif ci-dessus.

A titre de médicaments, les compositions ci-dessus peuvent être incorporées dans des compositions pharmaceutiques destinées à la voie digestive.

Ces compositions pharmaceutiques peuvent être, par exemple, solides ou liquides et se présenter sous les formes pharmaceutiques couramment utilisées en médecine humaine, comme par exemple les comprimés simples ou dragéifiés, les gélules, les granulés, les caramels, les suppositoires ; elles sont préparées selon les méthodes usuelles. Le ou les principes actifs peuvent y être incorporés à des excipients habituellement employés dans ces compositions pharmaceutiques, tels que le talc, la gomme arabique, le lactose, l'amidon, le stéarate de magnésium, le beurre de cacao, les véhicules aqueux ou non, les corps gras d'origine animale ou végétale, les dérivés paraffiniques, les glycols, les divers agents mouillants, dispersants ou émulsifiants, les conservateurs.

La présente invention a encore pour objet un procédé de préparation d'une composition ci-dessus décrite, caractérisé en ce que l'on mélange, selon des méthodes connues en elles mêmes, le ou les principes actifs avec des excipients acceptables, notamment pharmaceutiquement acceptables.

L'invention a aussi pour objet l'utilisation d'une composition ci-dessus, pour l'obtention d'un médicament destiné à une utilisation en tant



qu'anti-migraineux, c'est à dire pour le traitement de la migraine, ainsi que pour l'obtention d'un médicament destiné à une utilisation en tant qu'anti-inflammatoire.

Une composition ci-dessus décrite peut aussi se présenter sous la  
5 forme d'un complément alimentaire ou d'un produit diététique ou phytothérapeutique. Sous ces formes, elle peut se présenter sous les formes courantes des compositions pharmaceutiques, notamment celles destinées à un usage « grand public ».

Toutes les compositions ci-dessus peuvent avantageusement être  
10 associées à un autre principe actif choisi dans le groupe constitué par les analgésiques, les antipyrétiques, les antibiotiques, les anti-inflammatoires, les corticoïdes, les antiviraux et les médicaments des pathologies cardio-vasculaires.

Les exemples qui suivent illustrent la présente invention.

15

#### EXEMPLE 1

On a préparé des gélules répondant à la formule

Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique d'écorce de Saule blanc

(origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3021)..... 100 mg

20 Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique de parties aériennes de Grande Camomille

(origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3010)..... 100 mg

Gluconate de cuivre ..... 1,428 mg

Le gluconate de cuivre renferme 14% d'ions  $\text{Cu}^{++}$  soit 0,20 mg de  $\text{Cu}^{++}$ .

25

#### EXEMPLE 2

On a préparé des gélules répondant à la formule

Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique d'écorce de Saule blanc

(origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3021)..... 100 mg

Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique de parties aériennes de Grande Camomille

(origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3010)..... 100 mg

Gluconate de zinc ..... 2,000 mg

5 Gluconate de magnésium ..... 150 mg

### EXEMPLE 3

On a préparé des comprimés répondant à la formule

Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique d'écorce de Saule blanc

10 (origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3021)..... 150 mg

Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique de parties aériennes de Grande Camomille

(origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3010)..... 150 mg

Gluconate de cuivre ..... 1,500 mg

15

### EXEMPLE 4

On a préparé des ampoules buvables répondant à la formule

Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique d'écorce de Saule blanc

20 (origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3021)..... 1% p/v

Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique de parties aériennes de Grande Camomille

(origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3010)..... 1% p/v

Excipient qsp ..... 10 ml

25

### EXEMPLE 5

On a préparé une crème répondant à la formule

Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique d'écorce de Saule blanc

(origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3021)..... 1% p/v

Poudre lyophilisée d'extrait hydro alcoolique de parties aériennes de Grande Camomille

(origine BIOSPHERE 99 référence BIO 3010)..... 1% p/v

Gluconate de cuivre ..... 0,05 %

5 Excipient qsp ..... 10 ml

### ETUDE PHARMACOLOGIQUE

#### 1. Test d'activité anti-inflammatoire

10 On a utilisé l'oedème podal induit par la carragénine pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des produits testés.

Protocole opératoire :

Les produits ont été testés sur des rats mâles et des rats femelles Ico (Sprague Dawley) d'environ 250 g fournis par la Société IFFA-CREDO.

15 Les produits testés ont été mis en suspension dans de l'hydroxypropyle méthyle cellulose (HPMC).

On a administré aux animaux par voie orale un volume de 5 ml par kg de poids corporel, selon le protocole figurant dans le tableau ci-dessous.

N° Lot	Salix alba	Tanacetum parthenium	Cuivre gluconate	Quantité d'excipient	Volume administré
Lot 3	900 mg	/	/	15,0 ml (300 mg / 5 ml)	5 ml/kg
Lot 4	/	900 mg	/	15,0 ml (300 mg / 5 ml)	5 ml/kg
Lot 5	450 mg	450 mg	/	15,0 ml (300 + 300 mg / 5 ml)	5 ml/kg
Lot 6	450 mg	450 mg	4,28 mg	15,0 ml (150 + 150 + 0,25 mg / 5ml)*	5 ml/kg

Les animaux témoins ont reçu soit le placebo (T+), c'est à dire l'HPMC seul, soit l'indométhacine (T-) par voie orale.

Le traitement a eu lieu deux heures avant l'expérience. Une heure-  
5 après l'administration orale du produit à tester, tous les animaux ont reçu par injection 0,2 ml d'une solution à 2% de carragénine (Satia) dans une solution de chlorure de sodium à 0,9 % dans la patte postérieure droite (T<sub>0</sub>).

On a mesuré le volume podal de chaque rat en utilisant un pléthysmomètre. L'œdème podal de chaque animal a été mesuré aux temps  
10 T<sub>0</sub>, T<sub>0</sub>+ 60 minutes, T<sub>0</sub>+ 120 minutes, T<sub>0</sub>+ 240 minutes.

Les résultats ont été exprimés en pourcentages moyens d'inflammation comparativement aux valeurs témoins (T+) avant le traitement et à chacun des temps de mesure ainsi qu'en pourcentage de réduction de l'œdème versus un témoin avant le traitement et à chacun des temps de  
15 mesure.

Les résultats obtenus sont les suivants :

### RESULTATS

% d'inflammation après 1h, 2h et 4h de traitement

20 (% par rapport au témoin (T+))

	1 heure	2 heures	4 heures	Moyenne de l'inflammation
Témoin (T+)	46,05	81,92	143,88	
Indométhacine (T-)	38,34 (-16,74 %)	51,85 (-36,7%)	71,38 (-50,38%)	
Salix alba Lot 3	47,17 (+2,43%)	85,48 (+4,34%)	138,6 (-3,67%)	+ 1,03%
Tanacetum parthenium Lot 4	42,77 (-7,12%)	69,79 (-14,18%)	135,5 (-5,82%)	- 9,04%

S. alba + T. parthenium (à 50%) Lot 5	48,14 (+4,53%)	79,82 (-2,56%)	130,16 (-9,52%)	-2,52%
Salix alba + Tanacetum parthenium + Cuivre Lot 6	39,13 (-15,03%)	62,61 (-23,57%)	11,36 (-22,25%)	-20,28 %

« - » signifie qu'il a eu réduction de l'inflammation

« + » signifie qu'il y a eu augmentation de l'inflammation

## 5 Conclusions

L'extrait de Salix alba seul n'a pas d'effet sur l'inflammation induite par la carragénine.

L'extrait de Tanacetum parthenium seul réduit légèrement l'inflammation (seulement pendant les deux premières heures après l'administration mais cet effet s'estompe progressivement).

De manière inattendue, l'administration de Salix alba (50%) et de Tanacetum parthenium (50%) en présence de métal diminue de façon importante l'oedème induit par la carragénine à partir de la deuxième heure après le traitement.

L'activité anti-inflammatoire se manifeste après la première heure de traitement et continue au delà des quatre heures de la durée du test ce qui montre une activité durable dans le temps.

## 2. Etude de l'activité anti-migraineuse

Les propriétés anti-migraineuses des compositions de la présente demande ont été évaluées en étudiant la capacité du produit à se fixer sur les récepteurs  $\beta$  impliqués dans le processus de la migraine.

La fixation des produits testés aux récepteurs  $\beta$  a été évaluée selon la technique décrite par Abrahamson et al. dans "Biochemical Pharmacology, Vol. 37, N° 2, page 203-208, (1988).

Les membranes cellulaires ont été préparées en utilisant un  
5 morceau de tissu de cœur de rat pour l'analyse des récepteurs  $\beta 1$  et de tissu de poumons de cobaye pour les récepteurs  $\beta 2$ . Les tissus ont été homogénéisés dans une centrifugeuse à 45000 tours par minute pendant 5 minutes. Après centrifugation, le culot membranaire a été dilué dans le tampon Tris 20 mM, (Tris-HCl dans 154 mM NaCl et 2 mM  $MgCl_2$ , pH 7,5 à 4°C) pour  
10 obtenir une concentration protéique de 0,6 mg/ml à 2 mg/ml pour les suspensions utilisées dans l'expérimentation avec les radioligands en présence de 100  $\mu$ l de Guanosine Triphosphate.

Le composé de référence pour le récepteur  $\beta 1$  a été l'aténolol et pour le récepteur  $\beta 2$  le composé ICI 118.551.

15 Le radioligand utilisé tant pour le récepteur  $\beta 1$  que pour le récepteur  $\beta 2$  a été le [ $^3H$ ](-)CGP 12.177 à la concentration de 0,5 nM pour le premier et de 0,4 nM pour le second., et le ligand non-spécifique l'alprénolol (50  $\mu$ M). La durée d'incubation a été de 20 mn à 25°C dans les deux cas.

Protocole opératoire :

20 On a procédé comme suit :

100 mg d'extrait lyophilisé de *S. alba* et de *T. parthenium* ont été mélangés à 1 ml d'eau distillée (dilution 1:10) et préparés en double. Les tubes ont été centrifugés à 500 g pendant 5 minutes. Les surnageants ont été collectés et utilisés comme solution-mère pour les expériences suivantes.

25 La solution de l'association de *S. alba* et *T. parthénium* + cuivre a été préparée par mélange de 0,5 ml de solution de *S. alba* avec 0,5 ml de solution de *T. parthenium* et avec 0,933 mg de gluconate de cuivre et le tout a été mélangé.

Pour continuer les études, toutes les solutions ont été diluées à 10% pour être utilisées (dilution finale 1/100). Toutes les expériences ont été réalisées en double.

Le pourcentage d'inhibition des radioligands spécifiques, obtenu pour le récepteur étudié, a été déterminé et exprimé comme le pourcentage d'inhibition en comparaison avec l'aténolol ( $\beta_1$ ) et à l'ICI-118551 ( $\beta_2$ ) qui représentent les composés de référence.

### RESULTATS

Récepteurs	$\beta_1$	$\beta_2$
S. alba	- 48%	- 42%
T. parthenium	-86 %	- 95%
S. alba + T. parthenium + cuivre	-93%	- 97%
Référence	Aténolol	ICI 118551
IC 50 (nM)	4,280	4,200

10

### Conclusions

L'extrait de S. alba a quelque affinité avec les récepteurs  $\beta_1$  (-48%) et  $\beta_2$  (-42%). L'extrait de T. parthenium montre une plus forte affinité pour les récepteurs  $\beta_1$  (-86%) et  $\beta_2$  (-95%). La solution contenant l'association de S. alba et de T. parthenium avec du cuivre inhibe fortement les récepteurs  $\beta_1$  (-93%) et  $\beta_2$  (-97%).

15

L'association de S. alba et de T. parthenium avec le métal a la capacité d'inhiber presque à 100 % les récepteurs  $\beta$ , impliqués dans la physiopathologie de la migraine.

20

### 3. Test d'activité analgésique

50 souris mâles de 20-24 g fournies par la Société IFFA-CREDO (France) ont été réparties dans 5 lots. Les produits étudiés ont été administrés :

- par voie orale trente minutes avant l'injection de la phénylbenzoquinone (PBQ) : (PBQ 20 mg + alcool 5 ml + eau qsp 100 ml).

5 - par voie intrapéritonéale à raison de 0,20 ml par souris.

Les produits à tester ont été mis en suspension dans l'excipient HPMC (Hydroxy Propyl Méthyl Cellulose).

Les animaux ont été traités comme ci-dessous :

LOT	DOSE (mg/kg)	VOLUME (ml/kg)
1. Témoin (HPMC)	0	10
2. Aspirine	100	10
3. Salix alba	150	10
4. Tanacetum parthenium	150	10
5. S. alba + T. parthenium + cuivre	75 + 75 + 0,2	10

10

L'aspirine a été utilisée en tant que produit analgésique de référence.

La PBQ induit les crampes abdominales indiquant l'intensité de la  
15 douleur. Le nombre de crampes par souris a été mesuré 1 h et 2 h après l'administration du produit testé (30 mn et 1h30 après l'injection de la PBQ).

## RESULTATS

Les résultats sont exprimés en pourcentage :

20

$$\frac{\text{Nombre de crampes du lot témoin} - \text{Nombre de crampes du lot traité}}{\text{Nombre de crampes du lot témoin}} \times 100$$



Tableau de résultats : nombre de crampes sur une période de 10 minutes :

	Témoins	Aspirine	Salix alba	Tanacetum parthenium	S. alba + T. parthenium + Cu <sup>++</sup>
	39	17	26	34	27
	25	29	42	27	20
	36	29	28	27	19
	39	44	32	35	40
<b>T = 30 mn</b>	35	06	36	42	38
	38	19	28	35	36
	42	20	22	42	22
	46	14	18	46	21
	33	36	43	36	25
	30	28	40	39	24
<b>Moyenne</b>	36,30	24,20	31,50	36,30	27,20
<b>Pourcentage</b>	/	-33,30 %	-13,22 %	0 %	-25,06 %
	41	17	36	38	24
	52	32	31	41	29
	50	05	34	46	32
	36	09	26	42	26
<b>T = 1h 30</b>	34	11	42	29	18
	42	24	36	26	07
	37	26	32	26	26
	39	22	51	27	29
	36	19	19	43	27
	40	17	38	44	28
<b>Moyenne</b>	40,7	18,2	34,5	36,2	24,6

Pourcentage		-55,28 %	-15,23 %	-11,05 %	-39,55 %
-------------	--	----------	----------	----------	----------

#### Conclusions

- L'aspirine utilisée comme un produit analgésique de référence diminue les crampes abdominales induites par l'injection de la PBQ de 33% et 55% respectivement 60min. et 120 min. après l'administration.
- L'extrait seul de Salix alba à dose de 150mg/kg réduit légèrement le nombre de crampes (de 13% et 15% respectivement après 1h et 2h).
- L'extrait seul de Tanacetum parthenium n'a aucun effet pendant la première heure de traitement ; par contre il montre une légère activité analgésique (de 11%) à T = 2h.
- l'association d'extrait de Salix alba (50%), d'extrait de Tanacetum parthenium (50%) et de cuivre procure une forte augmentation des effets analgésiques des deux extraits testés seuls.

Ces résultats montrent que, bien que Salix alba seul ou Tanacetum parthenium seul n'aient pas d'activité analgésique, leur association avec du cuivre ( $\text{Cu}^{++}$ ) procure un intéressant effet analgésique.

#### 4. Etude toxicologique

On a évalué la toxicité aiguë de la combinaison Extrait sec d'écorce de Saule blanc (S. alba) - Extrait sec de Grande Camomille (T. parthenium) - Gluconate de cuivre dans les proportions suivantes : 15g - 15g - 142,8 mg (5g dans 20 ml d'eau) chez le rat lco (Sprague Dawley) par voie orale à la dose de 2 ml/kg administrée en dose unique. Les examens de morbidité ont été réalisés 15 mn, 1, 2 et 4 heures après l'intubation puis quotidiennement jusqu'au jour 14.

La dose létale 50 (DL 50) du produit testé est supérieure à 2g/kg par voie orale chez le rat.

### REVENDICATIONS

1. Une composition d'un salicoïde et d'un parthénoïde, ou de plantes ou d'extraits de plantes contenant ces deux principes actifs.
- 5        2. Une composition selon la revendication 1 caractérisée en ce qu'elle renferme en outre un métal choisi parmi le cuivre, le zinc ou le magnésium à l'état d'oligo-élément, ou de la riboflavine.
3. Une composition selon la revendication 1 ou 2 caractérisée en ce qu'elle renferme une plante du genre Tanacetum et une plante du genre Salix.
- 10       4. Une composition selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que les extraits utilisés sont des extraits secs de parties de plantes, séchées et broyées.
5. Une composition selon la revendication 1, pour son utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal.
- 15       6. Une composition selon l'une des revendications 2 à 4, pour son utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal.
7. Une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle renferme à titre de principe actif une composition telle que définie à la  
20 revendication 1, ainsi qu'un excipient pharmaceutiquement acceptable.
8. Une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle renferme à titre de principe actif l'une au moins des compositions telles que définies à l'une quelconque des revendications 2 et 3, ainsi qu'un excipient pharmaceutiquement acceptable.
- 25       9. Utilisation d'une composition telle que définie à la revendication 1 pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de la migraine.
10. Utilisation d'une composition telle que définie à l'une des revendications 2 à 4 pour la préparation d'un médicament destiné au traitement de la migraine.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 97/00370

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 A61K35/78

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9518 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 95-139371 XP002044282 & WO 95 08318 A (PEIDUS V N) , 30 March 1995 see abstract	1
A	FR 2 221 150 A (NEUKIRCH JACQUES) 11 October 1974	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 October 1997

Date of mailing of the international search report

1. 1. 11. 97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rempp, G

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 97/00370

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Observation: Although claim(s) 5, 6 concern(s) a method for the treatment of the human/animal body, the search was carried out on the basis of the effects attributed to the product/composition.

2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

### Information on patent family members

Int. .ional Application No

PCT/FR 97/00370

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2221150 A	11-10-74	NONE	

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Den. Je Internationale No

PCT/FR 97/00370

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 A61K35/78

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9518 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 95-139371 XP002044282 & WO 95 08318 A (PEIDUS V N) , 30 mars 1995 voir abrégé	1
A	FR 2 221 150 A (NEUKIRCH JACQUES) 11 octobre 1974	

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### \* Catégories spéciales de documents cités:

\*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

\*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

\*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

\*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

\*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

\*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

\*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

\*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

\*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

22 octobre 1997

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

11. 11. 97

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Rempp, G

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

nde internationale n°

PCT/FR 97/ 00370

## **Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)**

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☒ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:  
Remarque: Bien que la(les) revendication(s) 5,6 concerne(nt) une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit/à la composition.
2. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

## **Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)**

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n<sup>os</sup>.
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n<sup>os</sup>.

Remarque quant à la réserve

☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.

☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De. e Internationale No

PCT/FR 97/00370

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2221150 A	11-10-74	AUCUN	